藍　藻

主講人：徐　水　泉

日　期：民國52年5月16日

緒　言

藍藻英名爲 Blue-Green algae，是自然生存於水及土中，具能吸收利用空中的游離氮素作爲本身的養料。據文獻凡有固定利用游離氮素之微生物種類可歸納如下：

第一種　眞正細菌類 Fubacteriales.（獨立生活菌及共接生活菌2種）

第二種　放射狀菌類 Actinomyces.

第三種　絲狀菌類 Fungi (Mycorrhiza)

第四種　藻菌類 Algae.

藍藻是屬於第四藻菌類者，因其發見的歷史尙淺，尙未被人類普遍利用。藻菌類一般言之，係具葉綠素形成機能，屬於單純營養（Autotrophic）之顯微鏡的微生物，以無機物，大氣中之二氧化碳及太陽光而營光合作用合成有機物之機能。廣汎分佈於水，土中，種類很多，至目前爲止所發見的主要藻菌類列表如下（第一表參考）。因藻菌類爲單純營養的微生物，能從無機物合成有機物故㈠在土壤中能增加多量有機物供給其他微生物之勢力源外死滅後可生成土壤腐植質。㈡能使土壤中可溶性養分變成化合物，雖爲一時的但可防止其流失且放散多量氧氣於土壤中或溶解於水而滲透降下以補給作物之根，助長其呼吸作用。㈢至於能固定游離氮素之藍藻者可利用空中氮素而生育繁殖增加土壤之氮素含量等，在水稻栽培爲最普及的東南亞一帶可謂其效果頗大。在印度及日本已從事藍藻之利用研究。但本省尙未有此項之研究，從土壤有機物，氧氣供給，游離氮素利用上而言，本研究之重要性可謂意義甚大，對稻谷增產上爲一不可輕視之課題。

一、藍藻之發見及分佈

關於藍藻之研究，於1856年 Gregory 氏曾觀察矽藻能固定游離氮素之記載。1889年 Frank 氏用砂耕法證明在明處培養者則能增加氮素，而暗處則不然。1894年 Kossowitch 氏研究綠藻結果謂 Cystococcus 及 Stichococcus 兩種能固定氮素。Brizi 氏(1905～1908) Harrison. Aizer 兩氏（1913～1914）研究水田藻類謂藍藻能集積多量氮素而溶解於水中能使水稻應用助長其呼吸作用等。Drewes 氏（1928）發見 Nostcc, Anabaena 兩屬具固氮能力。 P. K. De, Sulaiman 兩氏（1939）報告藍藻類中有具固定氮素能力之種屬能增加土壤全氮之 4～35 % 氮量。渡邊氏（1940）從土壤中分離得能固定氮之藍藻數種。鹽入氏（1943）從日本印度之土壤中發見屬於 Nostoc, Oscillatoria 屬之藍藻並測定其固定氮能力爲 22.5kg/ha。奥田氏（1952）研究日本水田土壤中之藍藻謂 Tolypothrix 之固定氮能力在水田狀態二個月間爲 25mg/100g 乾土。

本藻之分佈概於濕潤的地表較多，但有的能生存於1公尺深層土中。耕作土比未耕作土分佈多。酸性土壤與中性及鹼性土壤之分佈情況及種類亦具差異，又冬期之分佈數量亦較少。

二、藍藻之生理

藍藻類含有葉綠素 a. (Chlorophyll a, $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$), 葉綠素 b. (Chlorophyll b, $C_{55}H_{70}O_5N_4Mg$), 青色素 (Phycocyanin) 及黃色素 (Carotin)，而呈藍綠色，可從土壤中之氮素，等無機物及二氧化碳，太陽光線而營光合作用合成有機物質之機能。其生育及光合作用機能受陽光及二

氧化碳等外環境是否適合其生理影響頗大。藍藻之生理因種類而時具特殊的性質故頗爲複雜，但其一般的性質如次。

本藻類之營養爲氮素及無機物如鉀、磷、鎂、鐵等必須要素，此等要素氮係取自大氣中之游離氮外無機物則可以磷酸鉀，硫酸鎂，氯化鐵，氯化鈣等形態供給。鉬、錳、鉛、維他命，微量之有機物如堆肥，碳水化物亦可助長其繁殖。

藍藻能生育之溫度範圍頗寬，因種類而雖略有差異，但能生存於凍結溫度以至高到 80°C 而不死者亦有，但其最適宜溫度概爲 30～35°C。

最適 pH 範圍爲 pH7～8.5 示好微鹼性。

三、藍藻之分離及培養

藻菌類在其生理上須陽光及二氧化碳而營光合作用爲較特殊，在分離及培養時須考慮外至於一般操作與細菌類無異。玆示分離用培養液參種如下。

Glucose 培養液		硝酸鈉培養液 (Bristol氏)		硝酸鈣培養液 (Detmer氏)	
K_2HPO_4	0.3gm	KH_2PO_4	0.5gm	$Ca(NO_3)_2$	1.0 gm
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2gm	$NaNO_3$	0.5gm	KCl	0.25gm
$CaCl_2 \cdot 6H_2O$	0.05gm	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.15gm	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.25gm
$FeCl \cdot 6H_2O$	Trace	$CaCl_3 \cdot 6H_2O$	0.05gm	KH_2PO_4	0.25gm
Glucose	2.0gm	NaCl	0.05gm	井水或水道水	1000ml
蒸溜水	1000ml	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	0.01gm		
		井水或水道水	1000ml		

藻菌類之分離法因藻菌類之培養稍須時日，在初步培養期間頗易受細菌，黴類之侵害，故非在測定藻菌數者，通常先施行集積培養，使藻菌類充分繁殖後才遊行平面培養爲較方便。

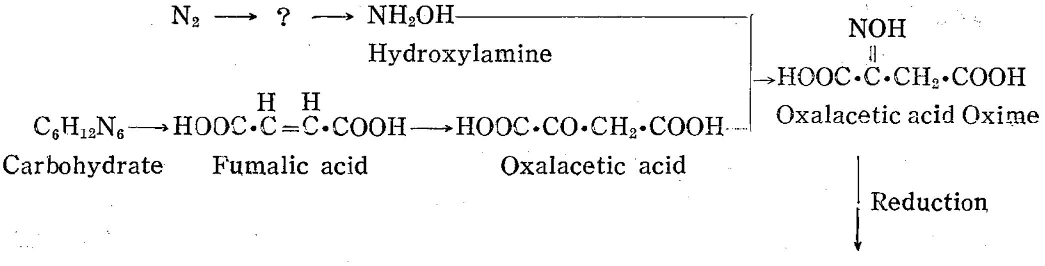
1. 集積培養——係爲一種預備培養，就試料（土壤或其殺菌水懸濁液）加入於經殺菌而且盛培養液之玻璃瓶內，蓋棉栓並置於窗邊明處或日光燈下，培養至藻菌類繁殖示青綠色並延至玻璃器壁時，將呈現青綠色部分爲材料純粹分離之。

2. 純粹分離——稀釋平面培養法，劃線平面培養法，試管斜面培養法，矽酸 Gel培養法等均可利用，唯在培養期間內放置於明處及以目的而選擇適宜條件培養外與一般相同。

四、藍藻之氮固定機構及固定力

1 氮固定機構

藍藻之游離氮素固定機構有各種學說，但目前最有力者爲 Blom 氏 (1931) 之 Hydroxylamine 學說，Blom 氏謂，游離氮素之固定爲經 Hydroxylamine (NH_2OH) 而產生氨基酸。卽游離氮素由 Nitrogenase 而活性化成第一次中間生成物，並經過未知過程生成爲 Hydroxylamine (NH_2OH)，與由碳水化物變成之 Oxalacetic acid 反應，碳與氮始結合生成 Oxalacetic acid Oxime, 復由 Oxalacetic acid Oxime 之還原而生成天多精 (*l*-Aspartic acid) 以爲合成蛋白質如下



$$\underset{\beta\text{-alanine}}{\overset{}{CH_2(NH_2)\cdot CH_2\cdot COOH}} \longleftarrow \underset{l\text{-Aspartic acid}}{HOOC\cdot CH(NH_2)\cdot CH_2\cdot COOH}$$

如上表所生成之 *l*-Aspartic acid 行氨基酸之轉位卽將其氨基轉移並與其他醣酸 (Keto acid) 生成種種氨基酸。而 *l*-Aspartic acid 因氨基之消失才復原爲原來之 Oxalacetic acid, 可再與 Hydroxylamine 結合，其變化如次。

$$\begin{array}{ccc}
HOOC\cdot CH(NH_2)\cdot CH_2\cdot COOH & \longrightarrow & HOOC\cdot CO\cdot CH_2\cdot COOH \\
l\text{-Aspartic acid} & & \text{Oxalacetic acid} \\
+ & & + \\
HOOC\cdot CO\cdot CH_3 & \longleftarrow & HOOC\cdot CH(NH_2)\cdot CH_3 \\
\text{Pyruvic acid} & & \text{alanine} \\
\text{(焦性葡萄酸)} & &
\end{array}$$

2. 藍藻之固定力

藍藻之氮素固定能力由種類之不同而有差異，據渡邊氏之報告如下。

藍 藻 種 類	固定氮量 mg/100ml 培養液，2個月溫度25°C
Tolypothrix tennice	9.6
Calothrix brevissima	5.2
Anabaenopsis sp.	3.4
Nastoc sp.	3.1

如上所示因種類而其固定氮量差異甚大，在實用上優良菌種之選擇頗爲重要。

五、藍藻之接種效果

藍藻之接種效果因藍藻種類及其固有固定能力之差異而不同外，受環境條件如溫度，光線，田水中之營養成分，反應，接種並管理法及土壤種類之影響頗大。

據奧田氏之盆栽試驗結果，在荒川的瘠薄土壤，無接種者水稻所吸收之氮素量與添加氮量相等示無氮素量增加。但接種者其氮素量，均示增加其氮素增加量，卽 Tolypothrix tennice 爲 15mg N/盆，Calothrix brevissima 爲 9mg N/盆。鴻巢之肥沃土者，接種區每盆之水稻風乾全重量 38.2g，總穀粒量 16.5g，無接種區者水稻風乾全重量 35.8g，總穀粒量 15.3g，且其增加率無接種爲100時接種者爲108。又在京大水稻田之田間試驗結果（10公畝之成績）示，Tolypothrix tennice 接種之藁重 507.6kg，穀重 451.7kg，而無接種者藁重 502.4kg，穀重 438.6kg，卽接種區均示較高。

小西氏以 1/2 萬公頃土管，在濕田及半濕田以基肥，基肥＋追肥，基肥＋追肥＋藍藻三處理，施行田間土管試驗結果，每土管之全穀收量及藁重量藍藻接種者均比無接種者爲高。

總之藍藻接種者其產量均比無接種者爲高，但在田間應用上，選擇優良菌種頗爲重要。藍藻所需營養源組成分及其補給，單位面積接種量，接種後溫度，光線，照射量之調制，pH値，管理法等尚須繼續研究之問題。

六、接種效果增强法

a. 石灰，磷肥之施用—施用石灰（生石灰或碳酸鈣）可使田面反應呈微鹼性適宜藍藻之繁殖外，並能抑制綠藻等之繁殖，且與鈣共存之二氧化碳可促進助長藍藻之光合作用。磷肥之連用具地

力增强效果外，亦可助長藍藻之繁殖。

b. 日射，溫度之調制—水稻栽植樣式與日射量及水溫之關係頗為密切，田面所受日射量在並木植者比普通植為多，而且水溫亦可保持 30～35°C 適宜於藍藻繁殖。

c. 堆肥之施用—堆肥可保持地力及助長藍藻之碳素同化作用。

d. 有害原生動物之驅除—蚯蚓，鞭毛蟲類之驅除防止藍藻類被害。

總之上述僅是藍藻之一般介紹，如能增加認識提高研究興趣及利用者甚幸，仍希惠賜指教。

第一表　主要土壤藻菌類

I 藍藻（分裂藻 Cyanophyceae or Myxophyceae. Blue-green algae)
- 1. 色球藻科 Chroococcaceae
  - a. 色球藻屬 Chroococcus nägeli
  - b. 粘球藻屬 Gloeocapsa Kützing
- 2. 顫藻科 Oscillatoriaceae.
  - a. 顫藻屬 Oscillatoria Vancher
- 3. 念球藻科 Nostocaceae
  - a. 念球藻屬 Nostoc Vancher
  - b. Anabaena 屬
- 4. 單列藻科 Scytonemaceae
  - a. 單列藻屬 Scytonema agardh

II 矽藻 Bacillariophyta. (Diatoms)
- 1. 矽藻科 Bscillariaceae
  - a. Navicula 屬
  - b. Nitschia 屬

III 綠藻 Chlorophyceae (Grass-green algae)
- 1. Volvocaceae
  - a. Chlamydomonas 屬
- 2. 助球藻科 Pleurococcaceae
  - a. Chlorella 屬
  - b. 助球藻屬 Pleurococcus
- 3. 原球藻科 Protococcaceae
  - a. 綠球藻屬 Chlorococcum
- 4. Ulothrichaceae
  - a. Ulothrix 屬

IV 接合藻 Cnjugatae
- 1. Mesotaeniaceae 科
  - a. Mesotaenium 屬
- 2. Desmidiaceae 科
  - a. Desmidium 屬

V 綠色鞭毛蟲類 Euglenales
- 1. Euglenaceae 科
  - a. Euglena 屬

文　　　献

1. 藍夢九著　土壤微生物學：67.　民國34年

2. 日本農林省振興局研究部監修 土壤肥料全篇：463. 民國47年
3. De, P. K. and Sulaiman. 1939. Soil Sci: **70** 135-151
4. WATANABE. A 1941 日本植物學第10回講演
5. WATANABE. A 1851 微生物藥學研究會例會講演
6. Okuda A. & Yamaguchi, M. 1952. Memoirs of the Research Institute for food science Kyoto Univ.: 2, 1-15, **4**, 1-11
7. Stokes, J. L. 1949. Soil Sci: **49**, 265
8. De. P. K. & L. N. Mandal, 1956 Soil Sci: **81**, 453

根瘤菌生存之諸問題

主講人：林 敬 德

日 期：民國52年5月16日

緒 言

自 Beijerinck (1888) 之根瘤菌分離成功及 Nobbe, Hiltner (1895) 製成 "Nitragin" 接種劑，並提倡純粹培養菌之接種以來從事根瘤菌之研究者甚多，有關報告亦不勝枚擧，玆就根瘤菌生存上較重要因子及本室年來之試驗結果略述如下：

一、根瘤菌之營養

1. 無機鹽類：根瘤菌之粗灰分爲 3.5～5.3%，以磷，鉀，鎂，鈉，鈣爲主，而其含量卽因菌種類而具差異（小西等，1938），此外鐵 (Thorne 等，1936)，鋁 (Whiting, 1915)，錳，鉻（小西等，1939）等對根瘤菌具生育促進作用。

2. 碳素源：碳素爲菌生育上必需之 Energy 源，而概以碳水化物醣類形態供應。根瘤菌對碳素源之利用具選擇性且其代謝結果能否生產酸類等生理性質因菌種類而具差異。其適宜之碳素源概以麥芽糖，蔗糖，葡萄糖，甘露醇等。魯冰菌以葡萄糖，分解乳糖，甘露醇，蔗糖等爲優良，且具木質糖，樹膠糖之醱酵生酸能力（農試所，1961），大豆菌於樹膠糖及木質糖之生育比魯冰菌爲優良且生酸性較顯明外概與魯冰菌示同樣傾向。碳水化物醱酵結果所產生之酸類，爲焦性葡萄酸 Pyruvic acid (Anderson, Deterson, Fred, 1928), clover 菌能分解葡萄糖生成乳酸而產生多量酪酸 (Virtanen, 1934)。

3. 氮素源：根瘤菌爲共生固氮細菌，菌單獨乃不能利用游離氮素，且氮爲菌體原形質形成之不可缺要素，因此培養期間氮爲必需供應之養料。豌豆菌之氮素源，酵母抽出液比氯化銨，硝酸鈉，尿素等爲優良（Walker 等，1934）酵母抽出液，糖蜜，腐植酸等中含有一種稱爲 Co-enzyme R 之物質而可刺戟根瘤菌之生育 (Allison, Minor, 1936)；又 Alfalfa, Cowpea 等菌可利用硫酸銨，硝酸鉀（石譯，1953）。

4. 適宜培養基：根瘤菌之培養基有葡萄糖消化蛋白質，荳科植物葉或種子煎汁，土壤抽出液甘露醇等頗多，但目前以酵母抽出液甘露醇爲最優良，其組成分爲磷酸二鉀 0.5g，硫酸鎂 0.2g，氯化鈉 0.1g，碳酸鈣 3.0g，甘露醇 10.0g，酵母抽出液 100ml.，蒸溜水 900ml.。

二、空氣對根瘤菌生育之影響

根瘤菌爲好氣性細菌，故培養瓶之密封阻害菌生育甚大，在液體培養30天後之生存菌數，棉花栓爲 38.5%，但木栓者僅爲 18.0%。Allicante (1926) 以大豆，Clover, Cowpea 種子浸漬於